

陰谷 吳茱萸 藥鍼이 卵巢摘出 생쥐의 骨多孔症에 미치는 影響

최성훈¹ · 이병렬² · 양기영² · 김재규² · 서영석³ · 임윤경¹

¹대전대학교 한의과대학 경락경혈학교실, ²부산대학교 한의학전문대학원 임상의학부, ³미즈여성병원

Effects of Herbal-Acupuncture with *Evodiae Fructus* at KI10 on Osteoporosis in Ovariectomized Mice

Sung-Hoon Choi¹, Byung-Ryul Lee², Gi-Young Yang²
Jae-Kue Kim², Young-Suk Seo³, Yun-Kyoung Yim¹

¹Dept. of Meridian & Acupoint, College of Oriental Medicine, Daejeon University

²Division of Clinical Medicine, School of Korean Medicine, Pusan National University, ³Miz Woman's Hospital

Abstract

Objective : This study is aimed to evaluate the effects of *Evodiae Fructus* herbal-acupuncture (EF-HA) at KI10 on osteoporosis induced by ovariectomy in mice.

Method : Mice underwent bilateral ovariectomy. After recovering, the ovariectomized (OVX) mice were treated by needle prick, saline injection, herbal acupuncture with *Evodiae Fructus* (EF-HA) at KI10 for 8 weeks.

Result :

1. EF-HA at KI10 significantly inhibited the overgrowth of tibia in ovariectomized mice.
2. NP at KI10 significantly restored the tibial BMD (bone mineral density) in ovariectomized mice.
3. EF-HA at KI10 significantly restored the phosphorus and creatinine levels in ovariectomized mice serum.
4. EF-HA at KI10 significantly restored the tibial Ca and P levels in ovariectomized mice.
5. EF-HA at KI10 significantly reduced the tibial osteoclast-like cells in ovariectomized mice.
6. EF-HA at KI10 significantly inhibited the overgrowth of tibial GPL (growth plate length) in ovariectomized mice.

Conclusion : EF-HA at KI10 has protective and therapeutic effect for osteoporosis in ovariectomized mice. Thus, it is suggested that EF-HA can be an useful therapeutics in clinical field after further researches.

Key words : Osteoporosis, Herbal-acupuncture, *Evodiae Fructus*, KI10

1. 緒 論

骨多孔症은 代謝性 骨 疾患 中 가장 흔한

疾患으로서, 骨量(bone mass)의 減少와 骨質(bone quality)의 變化로 인하여 뼈의 微細構造가 破壞되고 사소한 外力에 의해서 脆弱骨折(fragility fracture)이 發生하는 全身疾患이다. 世界保健機構(WHO)는 患者의 骨密度가 所屬 集團의 平均 骨密度에 비하여

· 교신저자: 임윤경, 대전시 동구 용운동 96-3
대전대학교 한의과대학 경락경혈학교실,
Tel. 042-280-2610, Fax. 042-280-2611,
E-mail: docwindy@dju.ac.kr

· 투고 : 2010/03/04 심사 : 2010/03/20 채택 : 2010/06/17

-1.0 에서 -2.5 표준편차(T-score) 미만인 경우를 骨減少症(osteopenia), -2.5 표준편차 이하인 경우를 骨多孔症이라 定義하였으며, 하나 이상의 骨多孔症性 骨折이 同伴된 경우를 重症 骨多孔症으로 分類하였다¹⁾. 건강보험심사평가원에서 제공하는 2008년도 진료비통계지표²⁾에서, 질병 소분류별 다발생 순위별 영양급여실적(입원)에서 발목을 포함한 아래다리의 골절(질병분류기호 S82)이 70,220건으로 16위, 갈비뼈, 복장뼈 및 등뼈의 골절(S22)이 62,865건으로 18위, 허리뼈 및 골반의 골절(S32)이 58,738건으로 25위, 아래팔의 골절(S52)이 45,172건으로 33위, 손목 및 손부위에서의 골절(S62)이 39,231건으로 34위로 나타났으며, 한방기관 영양급여실적(입원)에서도 骨折疾患(아33)은 229건으로 25위로 나타났다. 이를 통하여 骨多孔症의 가장 代表的인 症狀인 骨折로 인한 治療가 臨床에서 높은 比率을 차지하고 있음을 알 수 있다. 人口의 高齡化로 年齡의 增加와 關聯이 있는 骨多孔症으로 인한 骨折은 患者 및 醫師 모두가 관심을 가져야 할 疾患이고, 이미 서구에서는 醫療費 등 여러 면에서 社會적 問題로 대두되고 있다. 骨多孔症 骨折은 障碍, 死亡 및 經濟的 損失과 關聯이 있으므로 個人的, 社會的 및 醫療費 上昇 등의 社會的 問題가 될 수 있다. 또한 各種 研究報告들에서 50세 이상 女性에게는 적어도 骨多孔症이 10% 이상으로 推定되며, 死亡과 關聯이 높은 大腿骨 骨折의 경우 10年間 頻도가 4배 정도 增加되어 醫療費 등 여러 면에서 社會的 問題로 擡頭될 것으로 思料되어 그에 따른 治療와 豫防에 대한 社會保健

學的인 側面에서 觀心이 增加되고 있다³⁾.

韓醫學에서는 《素問·五藏生成》⁴⁾에서 “腎之合骨也”, 《素問·陰陽應象大論》⁴⁾에서 “腎生骨髓”라 하여, 腎이 骨과 骨髓를 主管한다고 하였다. 骨痿, 骨痺, 骨枯, 骨極 등은 先天稟受가 不足하거나 腎氣가 虛弱한 자에게 많으며 骨質의 弱화를 나타내는 疾病으로, 臨床症狀와 發病原因으로 보아 骨量이 減少하여 發生하는 骨多孔症과 密接한 關係가 있다⁵⁾.

藥鍼療法은 患者의 體質, 疾病 狀態 등을 辨證한 後 治療 經穴 및 體表 反應點에 特定 韓藥에서 精製 抽出한 藥物을 注射器로 一定量 注入하여 疾病을 治療하는 韓方醫療 行爲로서, 刺鍼과 藥物의 效果를 同時에 얻는 長點이 있다. 藥鍼의 뛰어난 長點은 빠르고 지속적인 效果를 쉽게 施術者와 患者가 確認할 수 있다는 것이다. 가벼운 疾患은 施術 후 그 자리에서 效果를 확인할 수 있고, 많은 疾患에서 迅速한 肯定的 變化를 經驗할 수 있다. 특히 痛症과 炎症을 주로 呼訴하는 筋·骨格系 疾患을 包含한 臟腑, 經絡의 많은 病에서 既存의 治療와 差別化되는 效能을 쉽게 確認할 수 있다⁶⁾.

吳茱萸는 芸香科에 속한 吳茱萸 *Evodia rutaecarpa (Juss.)Benth*의 미성숙 果實로 性は 熱하고 味는 辛苦하며 有毒하다. 肝·脾·胃·腎經으로 歸入하여 辛散 苦降 燥濕함으로써, 下焦를 溫하게 하여 暖厥陰하고 助腎陽하여 寒邪를 다스리고 營血을 溫하게 하여 經閉를 治療한다⁷⁾.

陰谷은 足少陰經의 合水穴로서 自性穴이 되며, 足少陰腎經·衝脈·陰維脈의 交會穴이

다. 祛濕通漚, 滋腎清熱, 疏泄厥氣, 利導下焦의 穴性으로 補腎培元, 調經利水, 化痰開竅, 通經絡의 效能이 있다. 膝痛如錐, 不得屈伸, 舌縱涎下, 煩逆, 溺難, 小便急引, 陰痛, 陰萎, 股內廉痛, 婦人漏下不止, 腹脹滿不得息, 小便黃, 男子如蠱, 女子如娠 등을 다스린다⁸⁾. 陰谷에 대한 刺鍼으로 慢性 膝關節炎⁹⁾ 등에 대하여 效果가 있다는 研究 結果가 있고, 陰谷에 대한 藥鍼 研究로는 五加皮¹⁰⁾, 骨碎補¹¹⁾, 肉蓯蓉¹²⁾ 등이 報告된 바 있다.

최근 骨多孔症에 대한 韓醫學的 實驗 研究로는 右歸飲 等¹³⁾의 複合藥劑와 何首烏 等¹⁴⁾의 單味劑를 利用한 研究가 있었고, 藥鍼實驗으로는 巴戟天 等¹⁵⁻¹⁶⁾이 있었으나, 吳茱萸 藥鍼이 骨多孔症에 미치는 影響에 대한 研究는 아직 접하지 못하였다.

이에 吳茱萸의 暖厥陰, 助腎陽하는 作用과, 陰谷의 滋補肝腎하는 效能을 結合하면 閉經期 骨多孔症의 治療에 有效할 것으로 思料되었다. 이에 吳茱萸 藥鍼이 閉經期 骨多孔症에 미치는 影響을 알아보기 위하여, 암컷 생쥐의 卵巢를 摘出하여 骨多孔症을 誘導한 後 생쥐의 陰谷에 해당되는 部位에 吳茱萸 藥鍼을 施術하여, 體重 變化, 子宮 무게, 子宮 比重, 脛骨 길이, 脛骨 灰分 무게, 骨密度를 測定하고, 血清 및 脛骨 灰分 分析, 脛骨 內 osteoclast like cell 分析, 脛骨의 組織學的 分析 등을 통하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材料

1) 動物

4週齡에 卵巢를 摘출한 7週齡 암컷 ddy mice(체중 22 ± 5 g) 64마리를 (주)중앙실험동물(경기도, 한국)로부터 供給받아, 實驗當日까지 固形飼料(抗生劑 無添加, 삼양사료, 천안, 한국)와 물을 충분히 供給하고, 室溫(22 ± 2 °C)과 濕度(50~60 %)를 維持하여 1週日間 實驗室 環境에 適應시킨 後 實驗에 使用하였다. 본 實驗은 대전대학교 동물실험윤리규정을 遵守하여 施行하였다.

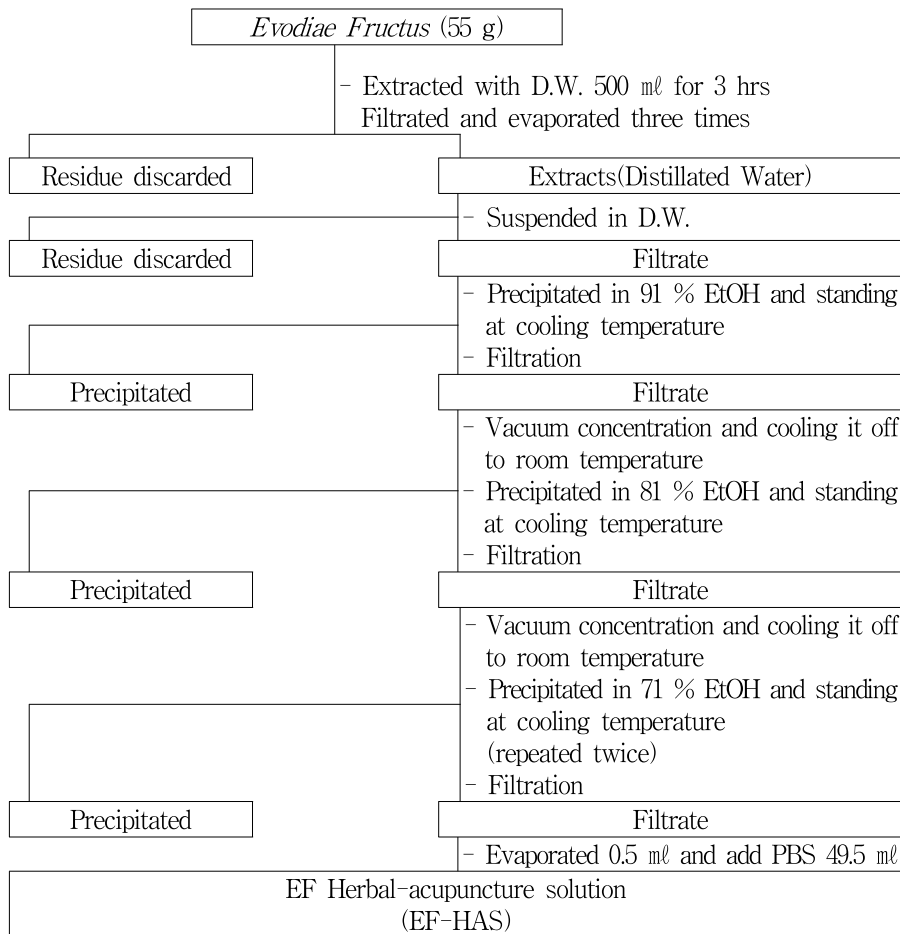
2. 方法

1) 藥鍼液의 製造

粉碎機를 利用해서 吳茱萸 55 g을 粉碎하여 粉末로 만들어, 삼각 flask에 넣고 蒸溜水 500 ml를 가하여 3시간 동안 shaking water bath에서 溜出한 後, 溜出液을 濾過하였다. 濾過液을 濾過紙로 3회 濾過한 後, rotary evaporator에 減壓濃縮 하였다. 濃縮液에 91 % ethyl alcohol 30 ml를 加하여, 室溫에서 攪拌한 後 放置하여, 沈澱物이 生成되게 한 後 濾過하였다. 이 濾過液을 rotary evaporator로 減壓濃縮한 後, 濃縮液을 다시 濾過하였다. 이 濾過液에 81 % ethyl alcohol 30 ml를 加하여 잠시 攪拌 後 放置하여, 沈澱物이 生成되게 한 後 濾過하였다. 濾過液에 71 % ethyl alcohol 30 ml를 加하고 攪拌한 後 放置하였다가 다시 濾過하는 操作을 2회 反復하였다. 濾過液 中の ethyl alcohol 性分을 rotary evaporator로 減壓 除去하고, 남은 濃縮液이 20 ml가 되게 하였다. 吳茱萸 55 g으로부터 얻은 吳茱萸 藥鍼液을 減壓濃縮하여 水分을

모두 날렸을 때에 얻은 粉末은 4.12 g이었다 (收得率 7.49 %). 1N NaOH를 이용하여 濃縮液을 pH 6.8이 되도록 조절하고, 4 °C에서 12시간 放置한 후, 沈澱物을 除去하기 위

해 syringe filter를 實施하였다. 濾過된 濃縮液에 PBS를 添加하여 1 %로 稀釋하여 藥 液으로 使用하였다(Scheme 1).



Scheme 1. Manufacturing procedure of EF-HA Solution.

2) 細胞毒性 測定

正常 ddy mice의 骨細胞 1×10⁵ cell/well에 0.5 %, 1 %, 5 %의 吳茱萸 藥液을 處理한 후 MTT assay를 利用하여, 細胞 生存率을 測定하였다.

(1) 造骨細胞의 分離 및 培養

正常 ddy mice의 脛骨과 大腿骨을 摘出한다. 차가운 PBS에 1분간 담근 後 筋肉을 除去하고, 깨끗한 PBS를 syringe에 넣어 骨

內部로 浸透시켜, 骨細胞들을 1200 rpm에 5분간 遠心分離한다. 上層液은 버리고, 沈澱된 骨細胞들은 MSC osteogenic singleQuots를 添加한 differentiation Basal medium(Cat No. PT-3924, Lonza, USA)을 利用하여 3번 洗滌한다. 준비된 細胞는 7일간 細布 培養을 실시하여 osteoblast cell의 分化를 誘導한다.

(2) MTT assay

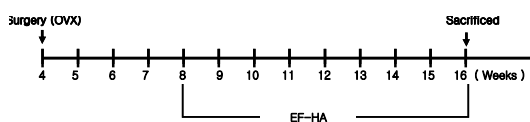
分化된 osteoblast cell의 viability를 trypan blue를 利用하여 確認한 뒤, 96 well plate에 細胞를 1×10^5 cells/well으로 分注하고, MSC osteogenic singleQuots를 添加한 differentiation Basal medium에 吳茱萸 藥鍼液을 濃度別로 處理하고, 72時間 동안 細胞 培養을 實施한다. 72時間 후에, MTT solution (5 mg/ml, Cat No. 135038, Sigma, USA)을 각 well에 20 μ l 씩 分注하고 5時間 동안 37 °C에서 incubation을 實施한다. 5時間 후, 각 well에 있는 medium을 100 μ l 씩 버리고, solubilizing solution을 100 μ l 씩 分注한 뒤 pipetting을 強하게 하여 well에 dark blue crystals가 沈澱하는 정도를 ELISA reader를 利用하여 570 nm에서 optical densities를 確認한다.

3) 骨多孔症 動物 모델

本 實驗에서 사용된 骨多孔症 모델은 卵巢摘出 ddy mouse 모델로, (주)중앙실험동물에서 4週齡에 卵巢摘出 手術(ovariectomy)을 施行하고 3週 동안 骨多孔症을 誘導한 암컷 ddy mouse를 구입하여 본 實驗에 利用하였다.

卵巢摘出 手術은, 動物을 에테르로 마취시

킨 다음 클리퍼로 등의 털을 깎고, 에탄올 솜으로 切開部位를 잘 닦은 후 施行하였다. 動物의 dorso-lateral abdominal wall을 미세 가위로 直徑 1 cm 정도 切開한 후, abdominal muscle 層을 切開하여 핀셋으로 脂肪層에 둘러싸인 卵巢 및 子宮을 꺼냈다. 卵巢와 子宮을 戀結하는 卵管을 縫合絲로 잘 묶은 다음, 卵巢를 完全히 除去하고, 縫合絲로 筋肉層과 皮膚를 잘 縫合한 후, 3週間 回復시켰다. 이 생쥐를 藥鍼 實驗을 위한 實驗室로 옮겨 1주간 적용시킨 후 실험하였다(Scheme 2).



Scheme 2. Osteoporotic mouse model

4) 取穴

人體에서 陰谷(Eumgok; KI10)은 무릎 뒤 안쪽면, 반힘줄모양근힘줄(simetendino tendon)의 바로 가쪽, 오금주름 위에서 取穴한다¹⁷⁾. 이 骨度分寸法에 依據하여 생쥐의 뒷다리에서 相應하는 部位를 取하였다.

5) 實驗群 分類 및 處置

ddy mouse 9마리씩을 한 群으로 하여 正常群(normal), 僞手術群(sham-OVX), 對照群(control), H.G.群(hand grasping), N.P.群(needle prick), saline群(saline injection), 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)의 7群으로 나누었다.

正常群(normal)은 아무런 處置도 하지 않았다. 僞手術群(sham-OVX)은 腹部를 切開한 후 卵巢를 摘出하지 않고 다시 縫合한

뒤, 以後 아무런 處置도 하지 않았다. 對照群(control)은 卵巢 摘出 以外의 處置는 하지 않았다. H.G.群은 卵巢 摘出 後, 藥鍼 處置時와 같이 생쥐를 잡았다 놓는 動作만 하고, 以外의 處置는 하지 않았다. N.P.群은 卵巢 摘出 後, 陰谷(KI10) 相應部位에 31 gauge 注射器를 0.2 cm 정도 깊이로 刺入하고 즉시 除去하였다. Saline群은 卵巢 摘出 後 saline 0.2 ml를 陰谷(KI10) 相應部位에 注入하였다. 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)은 卵巢 摘出 後, 陰谷(KI10) 相應部位에 1 %의 吳茱萸 藥鍼液(EF-HAS) 0.2 ml를 注入하였다. H.G., N.P., saline 注入, 吳茱萸 藥鍼 處置는 모두 卵巢 摘出 4週 以後부터 8週間 週 3回 施行하였고, N.P., saline 注入, 吳茱萸 藥鍼 施術은 實驗動物의 後肢에서 陰谷(KI10) 相應部位를 每 施術時마다 左右 交代로 取하여 施術하였다(Scheme 2).

6) 骨多孔症 評價

(1) 體重 測定

卵巢 摘出 4週 以後부터 實驗이 進行되는 8週間 1週日 間隔으로 各 實驗群의 實驗動物의 體重을 午前 時間에 測定하여 記錄하였다.

(2) 子宮 무게 및 子宮比重 測定

마지막 處置가 끝난 다음날, 생쥐를 ethyl ether를 利用하여 麻醉 시키고, 心臟採血을 施行한 후 開腹하여 大動脈 血管에 HBSS (Ca²⁺, Mg²⁺ free)를 投與하며 腹部쪽 血管을 切斷시켜 動物의 血液을 모두 排出시

킨다. 그리고 各 實驗群의 實驗動物의 子宮을 摘出하여 무게를 測定하여 記錄하였다. 子宮比重은 實驗動物의 몸무게에 대한 子宮 무게의 百分率로 計算하였다.

$$\text{Uterus index (\%)} = \frac{\text{Uterine weight (g)}}{\text{Animal weight (g)}} \times 100$$

(3) 脛骨 길이 測定 및 脛骨 灰分 分析

各 實驗動物의 脛骨을 摘出하여 주위 筋肉 및 軟組織을 除去한 다음 脛骨의 길이를 測定하였다. 脛骨을 120 °C에서 8시간 동안 乾燥시킨 後, furnace(Lab companion, Korea)를 이용하여 800 °C에서 6時間 동안 加熱하여 炭化한 뒤 脛骨 灰分 무게를 測定하였다. 炭화된 骨을 HCl 500 μl에 완전히 溶解시키고, 溶解된 炭化 骨 200 μl에 蒸溜水를 10 ml 添加하여 稀釋한 다음, 炭化 骨의 단위 무게 당 칼슘(Ca)과 인(P)의 量을 測定하여 mg/g 단위로 나타내었다. 칼슘과 인의 比率인 Ca/P ratio (%)는 다음의 公式을 利用하여 計算하였다.

$$\text{Ca/P ratio (\%)} =$$

$$\left(\frac{\text{Calcium contents of tibia}}{\text{Phosphorus contents of tibia}} \right) \times 100$$

(4) 骨密度 測定

各 實驗群의 實驗動物의 脛骨을 摘出하여 주위 筋肉 및 軟組織을 除去한 다음 24時間 동안 10 %의 formalin에 固定한다. 24時間 以後, 脛骨을 흐르는 물에 씻은 후, PIXImus (Lunar meison, WI, USA) 機器를 使用하여 DEXA(dual-energy x-ray absorptionmetry)의 方法으로 骨密度(bone mineral density,

BMD)를 測定하였다.

(5) 血清 分析

ethyl ether를 利用하여 實驗動物을 麻醉하고, 心臟 採血法으로 血液을 採取하였다. 採取한 血液에서 血漿을 分離하여, (주)이원 임상검사센터(대전, 한국)에 依賴하여 血清 ALP, calcium의 含量을 測定하였다. 血清 중 osteocalcin 含量은 Mouse Osteocalcin ELISA Kit(Cat No. BT-470, Biomedical Tech. Inc., USA)와 ELISA reader를 이용하여 測定하였다.

(6) 脛骨 內 osteoclast like cell 分析

各 群에서 截取한 脛骨에서 骨細胞를 15 ml tube에 모아, 차가운 PBS를 利用하여 洗滌한 후 trypan blue를 使用하여 細胞를 計數한다. 計數한 骨細胞를 2×10^6 cell/vial으로 FACs전용 tube에 分注한다. 骨細胞 中 osteoclast like cell의 比率를 確認하기 위하여 標式抗體 MHC II 와 CD115를 反應시켜 Flow Cytometry(BD, USA)로 分析하였다.

(7) 脛骨의 組織學的 分析

① H&E 染色 分析

各 群의 實驗動物의 脛骨을 截取하여, 주변 的 筋肉組織을 除去한 다음, 10 %의 formalin 에 固定하고 paraffin에 薄定을 實施하였다. 薄定한 組織을 (주)바이오톡스텍(오창, 한국)에 依賴하여 microtome을 利用하여 5 μm 로 切片하고 Hematoxylin and Eosin 染色을 實施하였다.

② Histomorphometry

H&E 染色한 組織을 螢光顯微鏡(ECLIPSE E600, Nikon, Japan)을 利用하여 관찰한 후, digital camera(DXM 1200F, Nikon, Japan)를 利用하여 寫眞을 撮影하고, ACT-1 program 을 利用하여 分析하였다. TBV(trabecular bone volume)는 다음 數式을 利用하여 計算 하였으며, TBT(trabecular bone thickness)와 GPL(growth plate length)는 自動 組織 分析 프로그램(I-solution, 퓨처사이언스, 대전, 한국)을 利用하여 測定하였다.

TBV (%) =

$$\left(\frac{\text{trabecular bone volume of sample section}}{\text{total bone volume of sample section}} \right) \times 100$$

7) 統計分析

實驗 結果는 各 實驗群에서 얻은 데이터의 平均과 標準偏差로 나타내었다. 正常群과 對照群을 SPSS(14.0 KO) 統計 프로그램의 Wilcoxon rank sum test를 利用하여 正常群과 骨多孔症 모델을 比較하였고, 對照群 · N.P.群 · saline群 · EF-HA群 間에서는 Kruskal-Wallis test(SPSS 12.0 KO for windows)를 施行한 後, 有意確率 $p < 0.05$ 일 경우에 限하여 Wilcoxon rank sum test를 施行하여, 各 實驗群에 施術한 處置의 效果를 比較하였다. 實驗群 間 有意確率 $p < 0.05$ 일 때 有意성이 있는 것으로 判定하였다.

III. 成 績

1. 藥鍼液의 細胞 毒性

正常 생쥐로부터 얻은 骨細胞 中 造骨細胞만을 取하여 吳茱萸 藥鍼液을 여러 가지 濃度로 處理하여 培養한 후 細胞生存率을 確認하였다. 吳茱萸 藥鍼液(EF-HAS)을 處理한 경우 control에 比하여 造骨細胞의 生存率이 有意하게 增加하였으며, 0.5 %, 1 % 吳茱萸 藥鍼液(EF-HAS)을 處理한 境遇에 比하여 5 % 吳茱萸 藥鍼液(EF-HAS)을 處理한 境遇 造骨細胞의 生存率이 有意하게 增加하였다(Fig. 1).

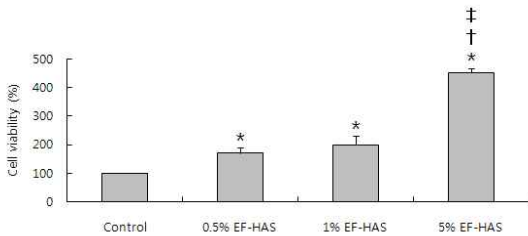


Fig. 1. Cell viability rate with various concentrations of EF-HAS.

Bone marrow cells from normal ddy female mice were prepared and cultured with various concentration of EF-HAS (*Evodiae Fructus*-herbal acupuncture solution). The cell survival rates were measured by MTT assay. Values represent the means \pm S.E.M. of 3 independent experiments.

* : $P < 0.05$ compared to control group by Kruskal-Wallis test.
 † : $P < 0.05$ compared to 0.5 % EF-HAS by Kruskal-Wallis test.
 ‡ : $P < 0.05$ compared to 1 % EF-HAS by Kruskal-Wallis test.

2. 骨多孔症 評價

1) 體重 變化

實驗動物의 몸무게를 實驗이 進行되는 8 週間, 週 1回 測定하였다. 正常群(normal)에

비하여 對照群(control)에서 몸무게가 전반적으로 높게 나타났으며, 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)에서는 對照群(control)에 비하여 전반적으로 몸무게가 낮게 나타났다(Fig. 2).

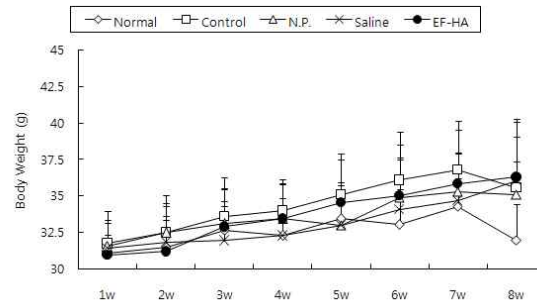


Fig. 2. Effect of EF-HA on body weight of ovariectomized mice.

All experimental animals except those in the normal group underwent bilateral ovariectomy. After recovering from the surgery for four weeks, the ovariectomized (OVX) mice were randomly allocated to each experimental groups and treated as described in the materials and methods. All animals were weighted weekly during the experimental period. Values represent the mean \pm SD (n=9).

Normal : Normal ddy mice

Control : Ovariectomized (OVX) mice

N.P. : OVX and single prick with an injection needle at KI10

Saline : OVX and saline(0.2 ml) injection at KI10

EF-HA : OVX and herbal acupuncture with

EF-HAS(1 %, 0.2 ml) at KI10

2) 子宮 무게

實驗動物의 子宮을 摘出하여 무게를 測定하였다. 正常群(normal)에 비하여 對照群(control)에서 子宮 무게가 有意하게 減少하였다. 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)을 비롯한 實驗群들과 對照群(control) 사이에는 有意한 差異가 없었다(Fig. 3).

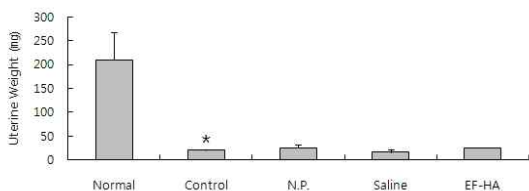


Fig. 3. Effect of EF-HA on the uterine weight of ovariectomized mice.

All experimental animals except those in the normal group underwent bilateral ovariectomy. After recovering from the surgery for four weeks, the ovariectomized (OVX) mice were randomly allocated to each experimental groups and treated as described in the materials and methods. Uterine was weighed after the mice were sacrificed. Data were expressed as mean \pm SD (n=4).

Normal : Normal ddy mice

Control : Ovariectomized (OVX) mice

N.P. : OVX and single prick with an injection needle at KI10

Saline : OVX and saline(0.2 ml) injection at KI10

EF-HA : OVX and herbal acupuncture with

EF-HAS(1 %, 0.2 ml) at KI10

* : $P < 0.05$ compared to normal group by Wilcoxon rank sum test.

3) 子宮 比重

實驗動物의 몸무게에 대한 子宮 무게의 百分率을 計算하였다. 正常群(normal)에 比하여 對照群(control)에서 子宮 比重이 유의하게 감소하였다. 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)을 비롯한 實驗群들과 對照群(control) 사이에는 有意한 差異가 없었다(Fig. 4).

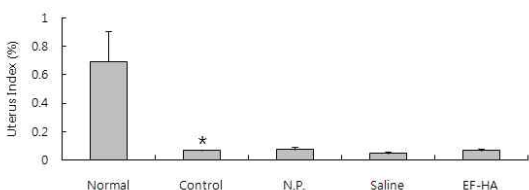


Fig. 4. Effect of EF-HA on the uterus index in ovariectomized mice.

All experimental animals except those in the normal group underwent bilateral ovariectomy. After recovering from the surgery for four weeks, the ovariectomized (OVX) mice were

randomly allocated to each experimental groups and treated as described in the materials and methods. Uterine was weighed after the mice were sacrificed. Uterus index was represented as uterine weight divided by body weight. Data were expressed as mean \pm SD (n=4).

Normal : Normal ddy mice

Control : Ovariectomized (OVX) mice

N.P. : OVX and single prick with an injection needle at KI10

Saline : OVX and saline(0.2 ml) injection at KI10

EF-HA : OVX and herbal acupuncture with

EF-HAS(1 %, 0.2 ml) at KI10

* : $P < 0.05$ compared to normal group by Wilcoxon rank sum test.

4) 脛骨 길이

實驗動物의 脛骨을 摘出하여 길이를 測定하였다. 正常群(normal)에 比하여 對照群(control)에서 脛骨 길이가 有意하게 增加하였다. N.P. 群과 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)에서 對照群(control)에 比하여 脛骨 길이가 有意하게 減少하였다. 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)에서는 saline群에 比해서도 脛骨 길이가 有意하게 減少하였다(Fig. 5).

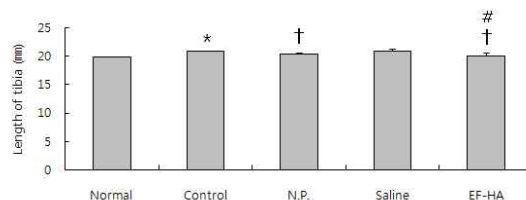


Fig. 5. Effect of EF-HA on the tibial length in ovariectomized mice.

All experimental animals except those in the normal group underwent bilateral ovariectomy. After recovering from the surgery for four weeks, the ovariectomized (OVX) mice were randomly allocated to each experimental groups and treated as described in the materials and methods. The length of tibia was measured after the mice were sacrificed. Data were expressed as mean \pm SD (n=3).

Normal : Normal ddy mice

Control : Ovariectomized (OVX) mice

N.P. : OVX and single prick with an injection needle at KI10
 Saline : OVX and saline(0.2 ml) injection at KI10
 EF-HA : OVX and herbal acupuncture with EF-HAS(1 %, 0.2 ml) at KI10
 * : $P < 0.05$ compared to normal group by Wilcoxon rank sum test.
 † : $P < 0.05$ compared to control group by Kruskal-Wallis test.
 # : $P < 0.05$ compared to saline group by Kruskal-Wallis test.

5) 骨密度

實驗動物의 脛骨을 摘出하여, 骨密度를 測定하였다. 對照群(control)에서 正常群(normal)에 比하여 骨密度가 有意하게 減少하였다. N.P. 群, saline 群 및 吳茱萸藥鍼群(EF-HA) 모두에서 對照群(control)에 比하여 骨密度가 有意하게 增加하였다. saline 群에서는 N.P. 群에 比하여 骨密度가 有意하게 減少하였으나, 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)에서는 N.P. 群에 比해서도, saline 群에 比해서도 骨密度가 有意하게 增加하였다(Fig. 6).

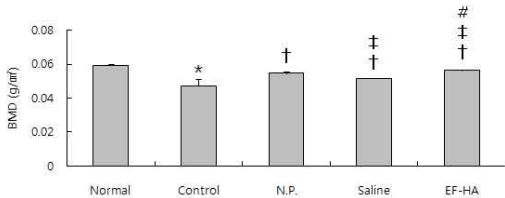


Fig. 6. Effect of EF-HA on tibial BMD in ovariectomized mice.

All experimental animals except those in the normal group underwent bilateral ovariectomy. After recovering from the surgery for four weeks, the ovariectomized (OVX) mice were randomly allocated to each experimental groups and treated as described in the materials and methods. After the mice were sacrificed, bone mineral density (BMD) of mouse tibia was measured by DEXA (dual-energy x-ray absorptionmetry) using PIXImus (Lunar meison, WI). Data were expressed as mean ± SD (n=3).
 Normal : Normal ddy mice
 Control : Ovariectomized (OVX) mice
 N.P. : OVX and single prick with an injection needle at KI10
 Saline : OVX and saline(0.2 ml) injection at KI10
 EF-HA : OVX and herbal acupuncture with EF-HAS(1 %, 0.2 ml) at KI10
 * : $P < 0.05$ compared to normal group by Wilcoxon rank sum test.
 † : $P < 0.05$ compared to control group by Kruskal-Wallis test.
 ‡ : $P < 0.05$ compared to N.P. group by Kruskal-Wallis test.
 # : $P < 0.05$ compared to saline group by Kruskal-Wallis test.

3. 血清 分析

各 實驗動物의 血清으로부터 alkaline phosphatase (ALP), phosphorus, calcium, osteocalcin, AST, ALT 및 creatinine의 濃度를 測定하였다(Table 1).

Table 1. Effect of EF-HA on various components in serum of ovariectomized mice.

Parameter	Normal	Control	N.P.	Saline	EF-HA
ALP (IU/ℓ)	224.00±66.36	342.00±70.09	378.67±160.38	312.67±139.93	393.67±29.67
Phosphorus (mg/dℓ)	21.89±2.11	24.25±6.10*	14.00±2.45†	20.40±0.61‡	11.98±1.20*#
Calcium (mg/dℓ)	7.35±0.21	7.05±0.84	7.90±0.72	6.55±0.72	7.33±0.59
Osteocalcin (O.D.)	0.38±0.11	0.62±0.03*	0.53±0.04	0.65±0.06	0.60±0.03
AST (IU/ℓ)	346.33±89.81	441.00±62.39	275.33±124.07	413.67±69.00	255.25±152.06
ALT (IU/ℓ)	64.00±15.13	77.00±2.65	67.33±28.10	63.67±13.05	45.25±11.90
Creatinine (mg/dℓ)	0.75±0.06	1.06*±0.17	0.62±0.06†	0.99±0.03‡	0.51±0.07*#

All experimental animals except those in the normal group underwent bilateral ovariectomy. After recovering from the surgery for four weeks, the ovariectomized (OVX) mice were randomly allocated to each experimental groups and treated as described in the materials and methods. Blood samples were taken from the mice hearts and the levels of various components in serum were measured. Data were expressed as mean ± SD (n=4).

Normal : Normal ddy mice

Control : Ovariectomized (OVX) mice

N.P. : OVX and single prick with an injection needle at KI10

Saline : OVX and saline(0.2 ml) injection at KI10

EF-HA : OVX and herbal acupuncture with EF-HAS(1 %, 0.2 ml) at KI10

* : $P < 0.05$ compared to normal group by Wilcoxon rank sum test.

† : $P < 0.05$ compared to control group by Kruskal-Wallis test.

‡ : $P < 0.05$ compared to N.P. group by Kruskal-Wallis test.

: $P < 0.05$ compared to saline group by Kruskal-Wallis test.

1) Alkaline phosphatase (ALP)

各 實驗動物에서 取한 血清에서 alkaline phosphatase(ALP)의 濃度를 測定하였다. 正常群(normal)에 比하여 對照群(control)에서 血清 ALP가 增加하였으나 有意性은 없었다. 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)은 對照群(control)에 比하여 ALP의 濃度에 有意한 變化를 나타내지 않았다.

2) Phosphorus

各 實驗動物에서 取한 血清에서 phosphorus의 濃度를 測定하였다. 正常群(normal)에 比하여 對照群(control)에서 phosphorus의 濃度가 儒醫하게 增加하였다. N.P.群에서는 對照群(control)에 比하여 phosphorus의 濃度가 有意하게 減少하였다. saline群에서는 對

照群(control)에 比하여 phosphorus 濃度가 약간 減少하였으나, 統計的 有意性은 없었고, N.P.群에 比하여 phosphorus 濃度가 有意하게 높았다. 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)에서는 對照群(control)에 比해서도, saline群에 比해서도 phosphorus 濃度가 有意하게 減少하였다.

3) Calcium

各 實驗動物에서 取한 血清에서 calcium의 濃度를 測定하였다. 各 實驗群의 血清 calcium 濃度는 統計的으로 有意한 差異를 나타내지 않았다.

4) Osteocalcin

各 實驗動物에서 取한 血清에서 osteocalcin level을 ELISA를 利用하여 測定하였다. 正

常群(normal)에 비하여 對照群(control)에서 osteocalcin의 濃도가 有意하게 增加하였다. 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)은 對照群(control)에 비하여 osteocalcin의 濃도가 약간 減少하는 등, 實驗群마다 差異는 있었으나, 有意성은 없었다.

5) AST

各 實驗動物에서 取한 血清에서 AST의 濃도를 測定하였다. 對照群(control)에서 正常群(normal)에 비하여 血清 AST의 濃도가 增加하였으나 統計的 有意성은 없었다. 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)에서 對照群(control)에 비하여 血清 AST의 濃도가 減少하였으나 有意성은 없었다.

6) ALT

各 實驗動物에서 取한 血清에서 ALT의 濃도를 測定하였다. 對照群(control)에서 正常群(normal)에 비하여 血清 ALT의 濃도가 增加하였으나 有意성은 없었다. 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)에서 對照群(control)에 비하여 血清 ALT의 濃도가 減少하였으나 有意성은 없었다.

7) Creatinine

各 實驗動物에서 取한 血清에서 creatinine의 濃도를 測定하였다. 正常群(normal)에 비하여 對照群(control)에서 creatinine의 濃도가 有意하게 增加하였다. N.P.群에서는 對照群(control)에 비하여 creatinine의 濃도가 有意하게 減少하였다. saline群에서는 對照群

(control)에 비하여 creatinine 濃도가 약간 減少하였으나 統計的 有意성은 없었고, N.P.群에 비하여 phosphorus 濃도가 有意하게 높았다. 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)에서는 對照群(control)에 비해서도, saline群에 비해서도 phosphorus 濃도가 有意하게 減少하였다.

4. 脛骨 內 Ca 및 P 含量 評價

各 實驗群의 脛骨을 灰分하여 얻은 試料를 利用하여 脛骨 內 Ca 및 P 含量과 Ca/P ratio를 測定하였다(Table 2).

Table 2. Effect of EF-HA on Ca, P, Ca/P ratio in tibia of ovariectomized mice.

Group	Levels in tibia (mg/g bone)		Ca/P ratio (%)
	Ca levels	P levels	
Normal	96.90±5.55	20.30±2.81	482.70±57.02
Control	74.56±10.61*	17.76±2.31	419.57±14.88
N.P.	89.62±5.64	20.09±1.19†	446.14±12.64
Saline	122.12±3.13**	26.96±1.71**	465.38±32.86
EF-HA	97.21±10.95#	24.64±2.22**	394.42±24.90

All experimental animals except those in the normal group underwent bilateral ovariectomy. After recovering from the surgery for four weeks, the ovariectomized (OVX) mice were randomly allocated to each experimental groups and treated as described in the materials and methods. After the mice were sacrificed, tibia was removed, dried, carbonized and dissolved in HCl and the tibial Ca level and phosphorus level were evaluated. And the tibial Ca/P ratio was calculated. Data were expressed as mean ± SD (n=4).

Normal : Normal ddy mice

Control : Ovariectomized (OVX) mice

N.P. : OVX and single prick with an injection needle at KI10

Saline : OVX and saline(0.2 ml) injection at KI10

EF-HA : OVX and herbal acupuncture with EF-HAS (1 %, 0.2 ml) at KI10

* : P<0.05 compared to normal group by Wilcoxon rank sum test.

† : P<0.05 compared to control group by Kruskal-Wallis test.

‡ : P<0.05 compared to N.P. group by Kruskal-Wallis test.

: P<0.05 compared to saline group by Kruskal-Wallis test.

1) 脛骨 灰分 무게

實驗 終了 後, 實驗動物의 脛骨을 दै워 脛骨 內 灰分 含量을 測定하였다. 對照群(control)에서 正常群(normal)에 比하여 灰分含量이 減少하였으나 統計的 有意性은 없었다. 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)에서는 對照群(control), N.P.群 및 saline群에 比하여 脛骨의 灰分 含量에 有意한 差異가 없었다(Fig. 7).

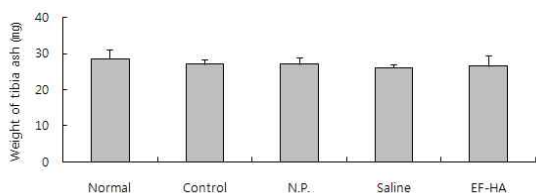


Fig. 7. Effect of EF-HA on the weight of tibia ash in ovariectomized mice.

All experimental animals except those in the normal group underwent bilateral ovariectomy. After recovering from the surgery for four weeks, the ovariectomized (OVX) mice were randomly allocated to each experimental groups and treated as described in the materials and methods. After the mice were sacrificed, tibias were removed, dried, and incinerated, and the ash was weighed. Data were expressed as mean \pm SD (n=4).

Normal : Normal ddy mice

Control : Ovariectomized (OVX) mice

N.P. : OVX and single prick with an injection needle at KI10

Saline : OVX and saline(0.2 ml) injection at KI10

EF-HA : OVX and herbal acupuncture with EF-HAS (1 %, 0.2 ml) at KI10

2) Calcium 含量

脛骨 內 calcium의 含量을 測定하였다. 對照群(control)에서 正常群(normal)에 比하여 calcium 含量이 有意하게 減少하였다. Saline群에서는 對照群(control), N.P.群 및 吳茱萸藥鍼群(EF-HA) 모든 實驗群에 比하여 calcium 含量이 有意하게 增加하였다. 吳茱萸藥鍼群

(EF-HA)에서는 對照群(control)에 比하여 calcium 含量이 增加하였으나, 統計的 有意性은 없었다.

3) Phosphorus 含量

脛骨 內 phosphorus의 含量을 測定하였다. 對照群(control)에서 正常群(normal)에 比하여 脛骨內 phosphorus의 含量이 약간 減少하였으나 有意性은 없었다. N.P.群, Saline群 및 吳茱萸藥鍼群(EF-HA) 모두에서는 對照群(control)에 比하여 脛骨 內 phosphorus 含量이 有意하게 增加하였으며, saline群과 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)에서는 N.P.群에 比하여 脛骨 內 phosphorus 含量이 有意하게 增加하였다.

5. 脛骨 內 osteoclast like cell 分析

脛骨 內 osteoclast like cell의 比率을 flow cytometry assay를 利用하여 測定하였다. 對照群(control)에서 MHCII⁺/CD115⁺ 細胞의 比率은 5.47 \pm 0.4로 나타나 正常群(normal)의 2 \pm 0.079에 比하여 顯著하게 增加하였으며, 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)에서는 1.13 \pm 0.94로 나타나 對照群(control), N.P.群 및 saline群에 比하여 減少하였다(Fig. 8).

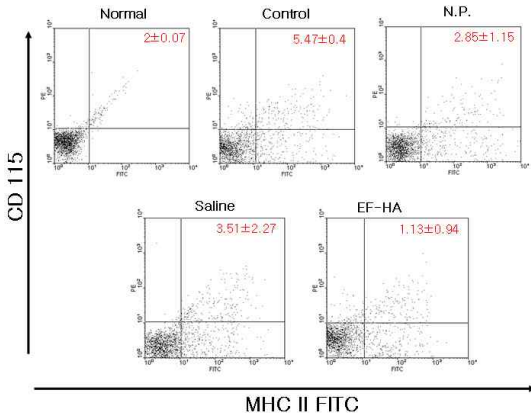


Fig. 8. Effect of EF-HA on osteoclast like cell in tibia of ovariectomized mice.

All experimental animals except those in the normal group underwent bilateral ovariectomy. After recovering from the surgery for four weeks, the ovariectomized (OVX) mice were randomly allocated to each experimental groups and treated as described in the materials and methods. After the mice were sacrificed, tibia was removed, and the number of osteoclast like cells in tibia was analyzed using flowcytometry. Data were expressed as mean ± SD (n=4).
 Normal : Normal ddy mice
 Control : Ovariectomized (OVX) mice
 N.P. : OVX and single prick with an injection needle at KI10
 Saline : OVX and saline(0.2 ml) injection at KI10
 EF-HA : OVX and herbal acupuncture with EF-HAS (1%, 0.2 ml) at KI10

脛骨 內 osteoclast like cell의 比率을 flow cytometry assay로 測定하여 群間 比較한 結果, 對照群(control)에서 正常群(normal)에 比하여 osteoclast like cell 比率이 有意하게 增加하였다. N.P.群과 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)에서는 對照群(control)에 比하여 osteoclast like cell 比率이 有意하게 減少하였다(Fig. 9).

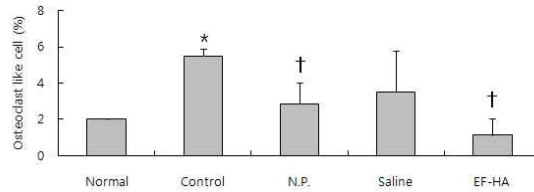


Fig. 9. Effect of EF-HA on osteoclast like cell in tibia of ovariectomized mice.

All experimental animals except those in the normal group underwent bilateral ovariectomy. After recovering from the surgery for four weeks, the ovariectomized (OVX) mice were randomly allocated to each experimental groups and treated as described in the materials and methods. After the mice were sacrificed, tibia was removed, and the number of osteoclast like cells in tibia was analyzed using flowcytometry. Data were expressed as mean ± SD (n=4).

Normal : Normal ddy mice

Control : Ovariectomized (OVX) mice

N.P. : OVX and single prick with an injection needle at KI10

Saline : OVX and saline(0.2 ml) injection at KI10

EF-HA : OVX and herbal acupuncture with

EF-HAS(1 %, 0.2 ml) at KI10

* : $P < 0.05$ compared to normal group by Wilcoxon rank sum test.

† : $P < 0.05$ compared to control group by Kruskal-Wallis test.

6. 脛骨의 組織學的 分析

1) H&E 染色 分析

實驗動物의 脛骨組織을 切片하여 Hematoxylin and eosin(H&E) 染色을 實施하였다. 對照群(control)에서 正常群(normal)에 比하여 骨 內部에 pore가 많이 나타났고, 支柱骨이 적게 分布하였다. 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)에서는 對照群(control), N.P.群 및 saline群에 比하여 pore의 生成이 減少되었으며, 支柱骨도 正常群(normal)과 類似하게 維持되었다(Fig. 10).

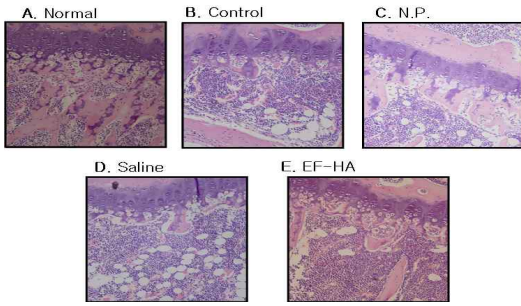


Fig. 10. Histological analysis (H&E stain) of tibia in ovariectomized mice.

All experimental animals except those in the normal group underwent bilateral ovariectomy. After recovering from the surgery for four weeks, the ovariectomized (OVX) mice were randomly allocated to each experimental groups and treated as described in the materials and methods. After the mice were sacrificed, tibia was sliced and embedded in paraffin, and 5 μ m sections were stained with Hematoxylin and Eosin($\times 200$).

Normal : Normal ddy mice

Control : Ovariectomized (OVX) mice

N.P. : OVX and single prick with an injection needle at KI10

Saline : OVX and saline(0.2 ml) injection at KI10

EF-HA : OVX and herbal acupuncture with

EF-HAS(1 %, 0.2 ml) at KI10

2) Histomorphometry

(1)TBV (trabecular bone volume)

實驗動物의 脛骨組織을 切片하여 H&E 染色을 한 후, 自動 分析 프로그램을 利用하여 支柱骨量(TBV)을 測定하였다. 對照群(control)에서 正常群(normal)에 比하여 支柱骨量(TBV)이 有意하게 減少하였으며, 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)에서는 對照群(control)에 比하여 支柱骨量(TBV)이 增加하였으나, 統計的 有意性은 없었다(Fig. 11).

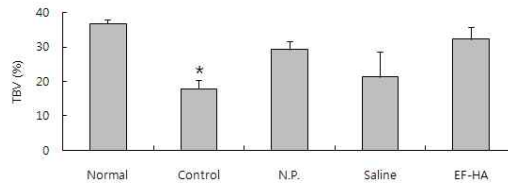


Fig. 11. Effect of EF-HA on the trabecular bone volume of tibia in ovariectomized mice.

All experimental animals except those in the normal group underwent bilateral ovariectomy. After recovering from the surgery for four weeks, the ovariectomized (OVX) mice were randomly allocated to each experimental groups and treated as described in the materials and methods. After the mice were sacrificed, tibia was sliced and embedded in paraffin, and 8 μ m sections were stained with Hematoxylin and Eosin. Trabecular bone volume of tibia was analyzed using a computer-assisted bone histomorphometric analysing system (n=3).

Normal : Normal ddy mice

Control : Ovariectomized (OVX) mice

N.P. : OVX and single prick with an injection needle at KI10

Saline : OVX and saline(0.2 ml) injection at KI10

EF-HA : OVX and herbal acupuncture with

EF-HAS(1 %, 0.2 ml) at KI10

* : $P < 0.05$ compared to normal group by Wilcoxon rank sum test.

(2) TBT (trabecular bone thickness)

實驗動物의 脛骨組織을 切片하여 H&E 染色을 한 후, 自動 分析 프로그램을 利用하여 支柱骨의 두께(TBT)를 測定하였다. 對照群(control)에서 正常群에 比하여 支柱骨의 두께(TBT)가 有意하게 減少하였다. 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)에서는 對照群(control), N.P.群 및 saline群에 比하여 支柱骨의 두께(TBT)가 增加하였으나, 統計的 有意性은 없는 것으로 나타났다(Fig. 12).

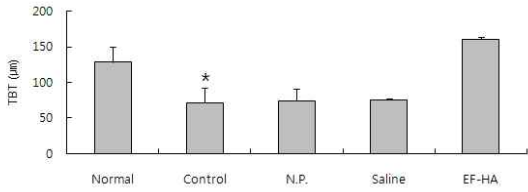


Fig. 12. Effect of EF-HA on the trabecular bone thickness of tibia in ovariectomized mice.

All experimental animals except those in the normal group underwent bilateral ovariectomy. After recovering from the surgery for four weeks, the ovariectomized (OVX) mice were randomly allocated to each experimental groups and treated as described in the materials and methods. After the mice were sacrificed, tibia was sliced and embedded in paraffin, and 8 μm sections were stained with Hematoxylin and Eosin. Trabecular bone thickness of tibia was measured using a computer-assisted bone histomorphometric analysing system (n=3).

Normal : Normal ddy mice

Control : Ovariectomized (OVX) mice

N.P. : OVX and single prick with an injection needle at KI10

Saline : OVX and saline(0.2 ml) injection at KI10

EF-HA : OVX and herbal acupuncture with EF-HAS (1 %, 0.2 ml) at KI10

*: $P < 0.05$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test.

(3) GPL(growth plate length)

實驗動物의 脛骨組織을 切片하여 H&E 染色을 한 후, 自動 分析 프로그램을 利用하여 成長板의 길이(GPL)를 測定하였다. 對照群(control)에서 正常群에 比하여 成長板의 길이가 有意하게 增加하였다. N.P.群, saline 群, 吳茱萸藥鍼群(EF-HA) 모두에서 對照群(control)에 比하여 成長板의 길이가 有意하게 減少하였다. 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)에서는 N.P.群 및 saline群에 대해서도 成長板의 길이가 有意하게 減少하였다(Fig. 13).

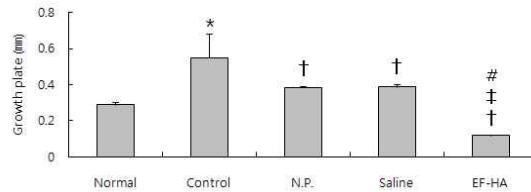


Fig. 13. Effect of EF-HA on growth plate length of tibia in ovariectomized mice.

All experimental animals except those in the normal group underwent bilateral ovariectomy. After recovering from the surgery for four weeks, the ovariectomized (OVX) mice were randomly allocated to each experimental groups and treated as described in the materials and methods. After the mice were sacrificed, tibia was sliced and embedded in paraffin, and 8 μm sections were stained with Hematoxylin and Eosin. Growth plate length of tibia was measured using a computer-assisted bone histomorphometric analysing system (n=3).

Normal : Normal ddy mice

Control : Ovariectomized (OVX) mice

N.P. : OVX and single prick with an injection needle at KI10

Saline : OVX and saline(0.2 ml) injection at KI10

EF-HA : OVX and herbal acupuncture with EF-HAS (1 %, 0.2 ml) at KI10

*: $P < 0.05$ compared to normal group by Wilcoxon rank sum test.

† : $P < 0.05$ compared to control group by Kruskal-Wallis test.

‡ : $P < 0.05$ compared to N.P. group by Kruskal-Wallis test.

: $P < 0.05$ compared to saline group by Kruskal-Wallis test.

IV. 考 察

骨多孔症은 發生 頻도가 높으며 骨折이 發生하면 治療가 어렵고 또한 治療費用이 많이 消耗되는 매우 중요한 疾患이다. 그러나 骨多孔症은 豫防이 가능하기 때문에 先進國에서는 公衆保健의 問題로 擡頭되어 醫師뿐만 아니라 患者와 政府에서도 많은 觀心을 가지고 이 疾患을 豫防하고 早期에 治療하여 結果的으로 人間의 壽命을 延長하고

治療費 負擔을 줄이기 위하여 많은 努力을 하고 있다¹⁸⁾.

骨多孔症은 代謝性 骨 疾患 中 가장 흔한 疾患으로서, 骨量(bone mass)의 減少와 骨質(bone quality)의 變化로 인하여 뼈의 微細構造가 破壞되고 사소한 外力에 의해서 脆弱骨折(fragility fracture)이 發生하는 全身 疾患이다. 世界保健機構(WHO)는 患者의 骨密度가 所屬 集團의 平均 骨密度에 비하여 -1.0에서 -2.5 표준편차(T-score) 미만인 경우를 骨減少症(osteopenia), -2.5 표준편차 이하인 경우를 骨多孔症이라 定義하였으며, 하나 이상의 骨多孔症性 骨折이 同件된 경우를 重症 骨多孔症으로 分類하였다¹⁾.

骨多孔症은 크게 原發性和 續發性으로 나누며 原發性 骨多孔症에는 閉經期 骨多孔症(제1형)과 老人性 骨多孔症(제2형)이 있다. 그 中 閉經期 骨多孔症은 51歲에서 65歲의 女子에게서 발병하며, 閉經期에 에스트로겐 부족으로 骨回戰率(bone turnover rate)이 增加하고 骨再形成(bone remodeling)에 均衡이 깨지면서 뼈의 微細構造가 惡化되고 骨량이 減少하여 뼈가 脆弱해지는 疾患이다¹⁹⁾.

骨多孔症은 檢査所見 上으로 特異 所見이 보이지 않아 診斷에 큰 도움이 되지 못한다. 血清 및 小便의 칼슘과 無機磷(inorganic phosphorous) 그리고 血清 알칼리성 및 산성 磷酸 分解 酵素 등은 대부분의 檢査에서 正常으로 나타나거나 輕微한 變化를 보일 뿐이다. 生化學的 指標 檢査는 骨 形成 및 骨 吸收 指標로 나눌 수 있는데, 骨 形成 指標에는 血清 알칼리성 磷酸 分解 酵素(serum alkaline phosphatase), 血清 오스테오칼신

(serum osteocalcin or bone Gla portein ; BGP), 전구 콜라겐 I 형 C-말단부 프로펩타이드(PICP, procollagen type I C-terminal propeptide) 등이 있다. 이중 오스테오칼신은 骨에 存在하는 特異하고 唯一한 蛋白質로서, 造骨細胞의 活動을 나타내는 데 가장 敏感하고 特異하다고 알려져 있다¹⁾.

骨多孔症은 食生活의 改善, 運動療法과 藥物療法 등의 總體的인 治療를 要하며 이미 進行된 狀態에서 疾病을 治療하기보다는 積極的인 豫防이 보다 效率的일 수 있다. 現在 骨多孔症에서 使用되고 있는 藥物은 크게 骨吸收 抑制劑와 骨形成 促進劑로 區分한다. 최근 사용되는 약제는 여성호르몬 에스트로젠, 選擇的 에스트로젠 收容體 調節劑(SERM; selective estrogen-receptor modulators), 비스포스포네이트(bisphosphonate) 製劑, 칼시토닌(calcitonin), 비타민 D, 칼슘 등이 있다²⁰⁾. 그러나 이러한 藥材들은 속쓰림, 嘔逆, 嘔吐, 潰瘍 등의 消化器 刺戟 症狀이나, 顔面紅潮, 冠狀動脈 疾患의 危險度 增加, 乳房癌, 腦卒中, 血栓 塞栓症 등의 誘發 可能性 등의 副作用을 일으킬 뿐 아니라 副甲狀腺 호르몬 製劑의 境遇는 治療期間이나 用量에 대한 研究가 아직까지 不足한 實情이다. 또한, 骨吸收 抑制만으로는 35~50% 內外의 骨折 抑制效果 밖에는 볼 수 없어 最近에는 良質의 骨 形成을 促進하는 새로운 概念의 藥材를 찾기 위한 研究에 초점을 맞추고, 식물성 에스트로젠, 韓藥製劑, DHEA, strontium ranelate 등에 대한 研究가 進行 중이다²¹⁾.

骨多孔症은 韓醫學的으로 ‘骨痿’, ‘骨痺’, ‘痺證’, ‘虛勞’ 등의 範圍에 屬한다고 할 수

있으며²²⁾, 骨의 萎弱한 狀態를 나타내는 ‘骨枯’, ‘骨極’이라는 病名과도 類似하다⁵⁾.

骨痿에 대하여 《素問·痿論》⁴⁾에 “腎主身之骨髓 …… 腎氣熱則腰脊不舉, 骨枯而髓減, 發爲骨痿 …… 有所遠行勞倦, 逢大熱而渴, 渴則陽氣內伏, 內伏則熱邪于腎, 腎者, 水臟也, 今水不勝火則骨枯而髓減, 故足不任身發爲骨痿也.”라고 하여 《素問·痿論》⁴⁾에 最初로 記錄된 病名으로 腎氣熱과 腎氣虛損이 發生原因이며 坐不能起, 腰脊不舉, 肌膚削而形羸瘦, 腰膝疼痛 등의 症狀을 나타내는데, 骨痿는 이 疾患의 生成機轉을 나타내는 表現 중 骨枯而髓減하여 發生된다고 하였으므로 骨多孔症과 매우 類似한 發病機轉을 가진다고 하겠다.

骨痺에 대하여 《素問·長刺節論》⁴⁾에 “病在骨, 骨髓不可舉, 骨髓酸痛, 寒氣至, 名曰骨痺.”라 하였고 《素問·逆調論》⁴⁾에서 “腎孤臟也, 一水不能勝二火, 故不能凍溧, 病名曰骨痺, 是人當攣節也.”라 하여 骨과 骨髓, 腎과 聯關된 有機的 生理作用의 失調로 骨에 病變이 發生한다고 볼 수 있다. 骨痺는 《素問·痺論》⁴⁾에서 敍述된 五痺 中의 一種으로 骨痺의 臨床症狀은 骨重不可舉, 骨髓酸痛, 舉節不用而痛으로 骨量 減少로 인한 骨質 弱화에 따른 骨多孔症의 主要 臨床表現과 類似하다. 《素問》⁴⁾에서는 痺症의 一般的인 原因인 風寒濕邪의 侵犯이 直接的인 原因이 되며 겨울에 發病하는 特徵을 지닌다고 하였으나, 《聖濟總錄》²³⁾에서는 骨痺가 天癸虧損으로 인한 神志不長에 기인하여 形成된다고 하여 現代醫學의 閉經期後 骨多孔症과 近似한 發生概念으로 說明하였다.

骨枯는 骨의 痿弱상태를 說明한 用語로 足少陰腎經의 氣가 骨髓를 濡養하지 못하여 發生하며 骨痿의 發生機轉에 該當한다고 볼 수 있으며 現代醫學의 骨多孔症과 매우 類似한 病症概念이라고 할 수 있다.

骨極은 腎臟中風에 의해 發病하는데 腎臟이 風邪에 感한 후 骨痺를 形成하고 骨痺가 治愈되지 않은 狀態에서 다시 邪氣에 感하였을 때 發生한다고 하며 手足煩疼, 腰脊痛, 不能久立, 屈伸不利, 腰背相引而痛, 髮墮齒枯, 耳鳴, 膀胱不通, 牙齒腦體苦痛, 手足疼痛 등의 症狀을 나타낸다. 따라서 骨極은 骨痺가 더욱 深化된 狀態라고 할 수 있으며 骨多孔症과 有關한 疾患이라고 볼 수 있다.

以上에서 볼 때 骨은 髓之府이고, 髓는 腎에서 生하니, 骨格의 生長과 機能은 腎氣의 盛衰에 따라서 決定되고, 骨病은 대개 先天稟受가 不足하거나 腎氣가 虛弱한 者에게 많으며, 骨痿, 骨痺, 骨枯, 骨極이 骨質의 弱화를 나타내는 疾病으로 臨床症狀과 發病原因으로 보아 骨多孔症과 密接한 關係가 있다⁵⁾.

吳茱萸는 芸香科에 속한 吳茱萸 *Evodia rutaecarpa (Juss.) Benth*의 未成熟 果實로 辛散苦降하고 性熱하며 燥하여 肝·脾·胃·腎經으로 들어간다. 溫中祛寒하고 舒肝解鬱하며 行氣燥濕하여, 下焦를 溫하게 하고 暖厥陰, 助腎陽하여 營血을 溫하게 한다고 하였다⁷⁾. 또한 《日華子諸家本草》에서는 “通關節. 治腹痛, 腎氣, 脚氣, ……”라 하여 關節을 圓滑하게 하는 效能도 言及하였다²⁴⁾.

骨多孔症의 病理機轉을 바탕으로 생각할 때 骨多孔症의 治療와 關聯한 經絡으로는

足少陰腎經이 直接的으로 骨髓를 濡養하는 作用을 遂行하므로 腎經에 대한 鍼灸療法이 骨多孔症의 治療와 豫防에 根本적으로 寄與할 수 있다⁵⁾. 足少陰腎經의 穴中 陰谷은 足少陰經의 合水穴로서 自性穴이 되며, 足少陰腎經·衝脈·陰維脈의 交會穴이다. 祛濕通漉, 滋腎清熱, 疏泄厥氣, 利導下焦의 穴性으로 補腎培元, 調經利水, 化痰開竅, 通經絡의 效能이 있다. 膝痛如錐, 不得屈伸, 舌縱涎下, 煩逆, 溺難, 小便急引, 陰痛, 陰萎, 股內廉痛, 婦人漏下不止, 腹脹滿不得息, 小便黃, 男子如蠱, 女子如娠 등을 다스린다⁸⁾. 陰谷에 대한 刺鍼으로 慢性 膝關節炎⁹⁾ 등에 대하여 效果가 있다는 研究 結果가 있고, 陰谷에 대한 藥鍼 研究로는 五加皮¹⁰⁾, 骨碎補¹¹⁾, 肉蓯蓉¹²⁾ 등이 報告된 바 있다.

崔의 報告²⁵⁾에 따르면, 最近 骨多孔症에 대한 國內 韓醫學 研究論文 66편 中에서 方劑에 관한 論文은 32편, 本草에 관한 論文은 50편, 藥鍼에 관한 論文은 14편, 뜸에 대한 論文은 1편으로, 주로 實驗에 의한 病態모델을 選擇하여 그 效果를 檢證하는 研究가 대부분이다.

骨多孔症에 관한 實驗的 研究로는 右歸飲¹³⁾, 何首烏¹⁴⁾ 등의 複合약제 및 丹米제와 약침 실험으로는 巴戟天¹⁵⁾, 香附子¹⁶⁾ 등이 있으나 吳茱萸에 관한 藥鍼 研究는 아직 접하지 못하였다.

이에 著者는 暖厥陰, 助腎陽하는 效果를 갖는 吳茱萸의 藥鍼液을 足少陰腎經의 陰谷에 注入함으로써 下焦의 肝腎을 溫하게 하여 骨髓를 助陽하고 關節을 圓滑케 할 수 있을 것이라는 假設 下에, 卵巢를 摘出하여

estrogen 缺乏에 의한 骨多孔症을 誘導한 생쥐에, 吳茱萸로 藥鍼液을 製造하여 생쥐의 뒷다리에서 人體의 陰谷(KI10)에 相應하는 部位를 取해 藥鍼施術한 後, 體重 變化, 子宮 무게, 子宮 比重, 脛骨 길이, 脛骨 灰分 무게, 骨密度를 測定하여 骨多孔症을 評價하고 血清 分析 및 脛骨 內 Ca 및 P 함량, osteoclast like cell, 脛骨의 組織學的 分析을 觀察, 研究하여 그 變化를 觀察하였다.

데이터 分析 結果, 僞手術群(sham-OVX)은 正常群과 有意한 差異를 나타내지 않았고, H.G.群(hand grasping)은 對照群(control)과 有意한 差異를 나타내지 않았다. 따라서 本論文의 實驗成績에서는 僞手術群과 H.G.群을 除外하고 統系分析을 하였다.

藥針液의 細胞毒性的의 評價는 正常 骨細胞에 藥針液을 處理하였을 때 細胞에 미치는 影響을 觀察한 것으로, 正常 생쥐로부터 얻은 骨細胞 中 造骨細胞만을 취하여 吳茱萸 藥針液(EF-HAS)을 여러 가지 濃度로 處理한 後 細胞 生存率을 確認한 結果, Control 群에 비하여 吳茱萸 藥針液(EF-HAS)의 濃度가 0.5%에서 1%로, 1%에서 5%로 增加함에 따라 濃度 依存的으로 造骨細胞의 生存率이 增加하였다. 따라서, 濃度 依存的으로 吳茱萸 藥針液(EF-HAS)의 細胞 增殖 效果가 있음을 알 수 있었다(Fig. 1). 하지만, 藥針의 效率과 細胞에 대한 毒性을 고려하여 1%의 藥針液을 利用하여 實驗하였다.

卵巢를 摘出した 後 estrogen이 缺乏된 쥐에서 體內脂肪의 蓄積으로 인해 體重이 增加한다는 Yamazaki의 報告²⁶⁾가 있다. 本 實驗에서는 Yamazaki의 報告와 같이 正常群에

比하여 對照群에서 몸무게가 전반적으로 높게 나타났다. 吳茱萸藥鍼群에서는 對照群에 比하여 전반적으로 몸무게가 낮게 나타나 (Fig. 2), 吳茱萸의 理氣解鬱作用이 지방축적과 體重增加에 影響을 미친 것으로 思料된다.

子宮은 子宮內膜과 子宮筋이 모두 estrogen에 依存的이며, estrogen은 卵巢에서만 分泌되므로 卵巢가 除去되면 子宮은 萎縮하게 된다²⁷⁾. 實驗 終了 後, 實驗動物의 子宮을 摘出하여 무게를 測定하고, 몸무게에 대한 子宮 무게의 百分率을 計算한 結果, 正常群에 比하여 對照群에서 有意하게 減少하여, 卵巢摘出에 의해 子宮이 萎縮되었음을 알 수 있었다. 吳茱萸藥鍼群에서는 對照群에 比하여 有意한 差異를 보이지 않아, 吳茱萸藥鍼이 卵巢摘出에 의한 子宮萎縮을 抑制하지는 못한 것으로 나타났다(Fig. 3, 4).

性호르몬은 思春期 骨端 閉鎖에 重要한 役割을 하므로, 卵巢를 摘出하여 性호르몬의 分泌가 적어지면 骨의 길이성장이 增加한다²⁸⁾.

各 實驗動物의 脛骨을 摘出하여 길이를 測定한 結果, 正常群에 比하여 對照群에서 脛骨 길이가 有意하게 增加하였으며, 吳茱萸藥鍼群에서 對照群에 比하여 脛骨 길이가 有意하게 減少하였다(Fig. 5). 自動 分析 프로그램을 이용하여 脛骨 成長板의 길이(growth plate length ; GPL)를 測定한 結果에서도, 卵巢摘出에 의하여 成長板 길이(GPL)가 有意하게 增加하였고, 陰谷 吳茱萸藥鍼에 의하여 有意하게 減少하였다(Fig. 13).

이는 陰谷의 補肝腎 作用에 吳茱萸의 燉厥陰 補腎陽 作用이 더해져, 卵巢摘出로 인

한 性호르몬의 不足을 補償함으로써 骨의 길이 成長을 抑制한 結果로 思料된다.

骨密度(bone mineral density ; BMD)는 骨 單位 面積當 骨質量(BMC)의 程度를 意味하는 것으로 뼈의 強度를 60~80% 反映한다. 즉, 骨密度 數値가 클수록 骨構造가 緻密하여 骨質量이 크고 強度가 높으므로 쉽게 骨折되지 않지만, 骨密度 數値가 낮은 뼈는 骨構造가 스폰지처럼 엉성하며 뼈가 얇아서 骨強度가 虛弱하므로 쉽게 骨折이 된다. 骨形成이 잘 안되거나 骨形成보다 骨消失이나 骨吸收量이 더 많으면 骨密度 數値 및 骨質量은 減少한다. 男·女 모두 30대에 最高 骨質量을 形成하지만 女性은 閉經期가 始作되는 45-50歲까지는 에스트로젠 分泌의 減少로 10年마다 약 5% 정도 減少하다가 閉經 後부터는 10年에 약 9% 정도로 急減 現狀을 보인다. 女性은 骨 損失量의 1/3 程度가 閉經 以後 5年 以內에 進行되므로 特別한 仲裁가 提供되지 않으면 老年期 女性의 骨質量은 건강한 젊은 女性의 平均 最古 骨質量보다 약 30~40% 정도 減少한다. 一般적으로 同性의 最古 平均 骨質量보다 약 30% 以上 적거나, 骨密度 t-value가 最古 平均 骨密度로부터 標準偏差 -2.5 以下를 骨多孔症이라 하는데, 閉經 以後 女性 대부분이 骨多孔症 危險에 露出되어 있다²⁹⁾.

本 研究에서 實驗動物의 脛骨을 摘出하여 骨密度를 測定한 結果, 卵巢摘出에 의하여 骨密度가 有意하게 減少하였으며, N.P., saline 및 吳茱萸藥鍼에 의하여 骨密度가 有意하게 增加하였으며, 그 중 吳茱萸藥鍼群은 N.P. 群과 saline群에 대해서도 骨密度가 높았다

(Fig. 6).

이는 陰谷의 補肝腎 作用이 卵巢摘出로 인한 骨密度 減少를 抑制하며, 吳茱萸 藥針은 이 作用을 더욱 強化시킨 結果로 思料된다.

Kalu³⁰⁾, Yeh³¹⁾에 의하면 卵巢摘出은 생쥐에 있어서 骨質의 量을 減少시키며 이는 血清內 骨交替率의 指標인 osteocalcin, calcium, phosphorus, alkaline phosphatase(ALP) 등의 上昇을 가져온다고 하였다.

血清 ALP의 活性은 骨生成의 指標로서 가장 흔하게 使用되며 造骨細胞의 活性을 反映한다. 血清 ALP 活性은 成長初期에 높은 값을 維持하나 成熟기가 되면 오히려 떨어지고³²⁾, 成人에서 年齡이 增加함에 따라 ALP 活性도 함께 增加하며 閉經時 에스트로겐의 缺乏으로 因하여 骨轉換이 增加하기 때문에 특히 閉經期 以後의 女性에서 增加한다고 報告³³⁾되었다. 血清 ALP는 뼈 뿐만 아니라 肝과 腎臟에서도 合成되므로 뼈에서 유래한 微細한 變化를 反映하는데 어려움이 있으나³⁴⁾, 包括적인 造骨細胞의 活性을 反映하므로 閉經 前後 女性에게 있어 좋은 骨形成 指標라고 할 수 있다.

本 實驗에서는 血清 ALP의 濃도에 差異가 存在하였으나, 統計적으로 有意한 變化는 아니었다(Table 1).

P(phosphorus)는 모든 細胞의 重要한 構成成分이면서 에너지 代謝, 筋 收縮, 組織으로의 酸素供給 等に 關與하며 健康成人의 體內 總量은 500~800g 程度이다. 그 中 80~90%는 骨에, 15%가 筋肉에 存在한다³⁵⁾. 血中 P의 濃度는 閉經 後 女性에서는 正常成人에 比해 약간의 增加가 일어난다³⁶⁾.

本 實驗에서 卵巢摘出에 因하여 血中 phosphorus의 濃度가 增加하였다. N.P.群 및 吳茱萸藥鍼群(EF-HA군)에서는 對照群에 比하여 phosphorus의 濃度가 有意하게 減少하였으며, 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)은 saline群에 比해서도 phosphorus 濃度가 有意하게 減少하였다(Table 1).

이는 吳茱萸 藥鍼이 卵巢摘出로 因한 phosphorus 濃度 上昇을 抑制하며, 陰谷의 補肝腎 作用에 吳茱萸의 暖厥陰 助腎陽의 效能이 더해진 效果로 思料된다.

Calcium은 成人의 體內에서 約 1~1.2 kg 程度 存在하는데 그 中 99%가 뼈에 存在하고, 支持組織으로서의 役割을 擔當한다. 나머지 1%의 calcium은 血液, 細胞外液, 筋肉, 血管 및 外內分泌線 등의 軟部組織의 細胞內에 存在하며, 神經의 傳達이나 興奮, 心筋이나 骨格筋의 收縮, 凝固因子의 活性化, 外內分泌線에서의 消化酵素나 호르몬 分泌, 그 標的器官에서의 作用 및 赤血球 등의 膜 安定化 等 여러 組織의 機能維持에 必要하다³⁷⁾. 血中 calcium 濃度の 變化는 뼈에 存在하는 calcium의 影響을 받게 되고 卵巢摘出로 因한 骨交替率의 增加는 骨質의 減少를 招來하여 血中 calcium의 上昇을 가져오게 하므로³⁸⁾, 血中の calcium 濃度變化는 骨吸收와 聯關이 있다.

本 實驗에서 各 實驗群의 血清 calcium 濃度는 有意한 差異를 나타내지 않았다(Table 1).

오스테오칼신(osteocalcin)은 造骨細胞와 象牙芽細胞(odontoblast)에서 分泌되는 또 하나의 비콜라겐 蛋白質으로서 骨形成 指標者 中 하나이다. osteocalcin은 骨基質 內에 編

入되어 있는 단백질이기 때문에 骨吸收 過程 동안에도 血液으로 분비될 수 있다. 따라서 한 時期의 osteocalcin 血中 濃度는 骨形成과 골吸收의 두 가지 性格을 모두 標示하는 것으로, 骨形成의 特異的 骨標識者라기보다는 骨交替率을 全般的으로 反映하는 것이다³⁾. 各種 實驗研究에서는 卵巢摘出 時 血中 osteocalcin 含量이 增加하며, 이는 骨多孔症을 評價하는 하나의 重要的 指標로 알려져 있다³⁹⁾.

本 實驗에서도 卵巢摘出에 의하여 血中 osteocalcin의 濃度가 有意하게 增加하였다. 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)에서는 對照群에 比하여 osteocalcin의 濃도가 약간 減少하였으나 有意성은 없었다(Table 1).

以上の 血清 ALP, phosphorus, calcium, osteocalcin 測定 結果에서는 陰谷 吳茱萸 藥鍼이 卵巢摘出로 인한 骨形成 減少와 骨吸收 增加를 回復시키는 傾向성을 나타냈다.

實驗動物에서 取한 血清에서 AST, ALT, creatinine의 濃度を 측정한 結果와 血清 AST와 ALT의 濃도에는 유의한 變化가 나타나지 않아, 陰谷 吳茱萸 藥鍼이 肝機能에는 별다른 影響을 미치지 않은 것으로 보이며, 血清 creatinine은 陰谷 吳茱萸 藥鍼에 의하여 有意한 減少를 나타내어, 腎臟 機能의 回復에는 陰谷 吳茱萸 藥鍼이 일정 程度의 影響을 미친 것으로 思料된다(Table 1).

骨의 無機質 成分 中에는 칼슘과 인이 특히 많으며, 수산화인회석(hydroxyapatite) 結晶을 이루고 있다. 骨基質의 파괴, 骨의 微細構造와 함께 骨의 無機質化 程度는 骨의 硬度和 強直度を 決定하여 骨強度에 重要的

要素가 된다. 또한 骨은 體內 無機質의 貯場所로 그 代謝에 關與한다. 체내 칼슘의 99%, 인의 90%가 골에 저장되어 있다³⁾. 平均 成人의 體內에는 약 1~2 kg의 칼슘이 存在하며 98% 以上이 骨格 內에 있다. 骨格 內 칼슘은 機械的 安定성을 提供하며, 各種 細胞外液의 칼슘 濃度 維持를 위한 貯場所의 役割을 한다. 細胞外液의 이온화 칼슘 濃度는 좁은 範圍 內에서 維持되어야 하는데, 그 이유는 이것이 神經筋肉 活動性, 分泌, 信號傳達 等의 廣範圍한 細胞機能에 重要的 役割을 하기 때문이다. 칼슘 攝取가 不足하거나 關聯된 호르몬이나 臟器에 異狀이 있을 경우 血清 無機質 濃度의 恒常性 維持가 깨질 수 있다. 이러한 경우 副甲狀腺 호르몬과 1,25(OH)₂D의 血中濃度가 上昇되어 造骨細胞에 의한 骨吸收를 增加시키며, 이러한 작용은 점차 持續的인 骨 減少를 誘發한다⁴⁰⁾.

骨이 吸收될 때 P와 Ca은 함께 細胞外液으로 放出되고, 有機質이 吸收되어 骨代謝가 일어나고 있을 때 增加한다⁴⁰⁾. 卵巢를 切除한 쥐에서는 骨의 calcium 含量과 phosphorus 含量이 減少하며, 이러한 結果를 通하여 骨吸收가 增加된 것으로 볼 수 있다²⁶⁾.

本 實驗에서 骨의 calcium 含量을 測定한 結果, 卵巢摘出로 因하여 骨의 calcium 含量이 有意하게 減少하였으며, saline 注入에 의하여 有意하게 回復되었다. 吳茱萸 藥鍼에 의해서도 統計的으로 有意한 것은 아니었지만 脛骨 內 calcium 含量이 增加한 것으로 나타났다. 骨의 phosphorus 含量은 對照群에서 正常群에 比하여 약간 減少하였다. 各 實

驗群 比較 結果, N.P., 陰谷 saline 注入 및 吳茱萸 藥鍼에 의하여 phosphorus 含量이 有意하게 增加하였으며, N.P.群에 비해서 saline 群과 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)에서 phosphorus 含量이 有意하게 높게 나타났다(Table 2).

陰谷 吳茱萸 藥鍼에 의한 脛骨 內 calcium 과 phosphorus의 含量 增加는 陰谷 吳茱萸 藥鍼이 卵巢摘出로 인한 骨吸收 增加를 抑制함으로써 骨多孔症의 治療에 有意한 效果가 있음을 意味한다고 생각된다.

造骨細胞는 骨基質을 生成하며, 破骨細胞(osteoclast)는 骨基質을 再吸收한다⁴⁰⁾. 骨格은 骨芽細胞에 의하여 持續的인 沈着이 일어나고 破骨細胞가 活性化된 部位에서는 持續的인 骨格의 吸收가 일어나는데, 成熟되는 모든 骨格에서 骨芽細胞의 活性度는 持續的으로 維持되며, 成長 中인 骨格을 除外하고는 骨沈着率과 骨吸收率은 同等하여 骨格의 總量을 一定하게 維持한다. 그러나 30~45歲以後 이러한 均衡은 깨지고 吸收가 凌駕하게 된다. 이러한 過程은 閉經期 以後의 女性에서 始作하기도 하며, 過度한 骨消失은 破骨細胞의 機能 增加와 或은 造骨細胞의 機能 減少 때문에 일어날 수도 있다⁴¹⁾.

本 實驗에서 卵巢摘出에 의하여 脛骨 內 osteoclast like cell이 顯著하게 增加하였으며, N.P.와 陰谷 吳茱萸 藥鍼에 의하여 脛骨 內 osteoclast like cell이 有意하게 減少하였다(Fig. 9).

이러한 結果는 陰谷 吳茱萸 藥鍼이 卵巢摘出에 의한 破骨細胞의 活性 增加를 抑制하였고, 陰谷의 補肝腎 作用이 主要했으며, 이를 吳茱萸의 暖厥陰 助腎陽 作用이 강화

시켰음을 意味한다.

骨多孔症은 組織學的으로는 骨 皮質이 얇아지고 骨素柱(支柱骨, trabecula)의 數量과 크기가 減少되며 하버시안 계(Haversian system, osteon)와 骨髓腔(bone marrow cavity)이 넓어져 骨의 弱화를 일으킨다¹⁾.

本 實驗에서 動物의 脛骨組織을 切片하여 Hematoxylin and Eosin(H&E) 染色을 實施하였는데, 對照群에서 正常群에 比하여 骨 內部에 pore가 많이 나타났고, 支柱骨이 적게 分包하였다. 吳茱萸藥鍼群(EF-HA)에서는 對照群에 比하여 pore의 生成이 減少되었으며, 支柱骨도 正常群과 類似하게 維持되었다(Fig. 10). 또한 自動分析 프로그램을 利用하여 支柱骨量(TBV)과 支柱骨의 두께(TBT)를 측정된 결과, 卵巢摘出에 의하여 支柱骨量(TBV)과 支柱骨의 두께(TBT)가 有意하게 減少하였으며, 陰谷 吳茱萸 藥鍼에 의하여 支柱骨量(TBV)과 支柱骨의 두께(TBT)가 增加하였지만 統計的 有意성은 없었다.

이러한 結果는 陰谷 吳茱萸 藥鍼이 卵巢摘出에 의한 支柱骨의 減少를 抑制하는 傾向性 있음을 意味한다.

以上の 結果를 綜合해 보면, 陰谷 吳茱萸 藥鍼은 卵巢摘出에 의해 誘發된 것으로 여겨지는 생쥐의 原發性 第1形 骨多孔症의 豫防과 治療에 有意한 效果를 나타냈다. 따라서 吳茱萸 藥鍼療法은 閉經期 骨多孔症에 有效한 禮房 및 治療法이 될 수 있을 것으로 推定되며, 向後 臨床的 活用을 위한 보다 積極的이고 持續的 研究가 必要하다고 思料된다.

V. 結 論

卵巢를 摘出하여 estrogen 缺乏에 의한 骨多孔症을 誘導한 ddy mice를 對象으로 陰谷에 施術한 吳茱萸 藥鍼이 骨多孔症에 미치는 影響을 觀察한 結果, 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 陰谷 吳茱萸 藥鍼은 脛骨 길이의 增加를 有意하게 抑制하였다.
2. 陰谷 吳茱萸 藥鍼은 骨密度的 減少를 有意하게 回復시켰다.
3. 陰谷 吳茱萸 藥鍼은 血清 phosphorus와 creatinine의 增加를 有意하게 回復시켰다.
4. 陰谷 吳茱萸 藥鍼은 脛骨 內 Ca 含量과 P 含量의 減少를 有意하게 回復시켰다.
5. 陰谷 吳茱萸 藥鍼은 脛骨 內 osteoclast like cell의 增加를 有意하게 抑制시켰다.
6. 陰谷 吳茱萸 藥鍼은 脛骨 成長板 길이의 增加를 有意하게 抑制시켰다.

以上の 結果, 陰谷 吳茱萸 藥鍼은 estrogen 缺乏에 의한 原發性 第1形 骨多孔症의 豫防과 治療에 有效할 것으로 思料된다.

參考文獻

1. 대한정형외과학회. 정형외과학(orthopaedics). 제6판. 서울 : 최신의학사. 2006 : 214-25
2. 건강보험심사평가원. 통계표-2008. http://www.hira.or.kr/cms/rd/rdi_statistics/morgue/1191105_5295.html : 68, 92
3. 대한골대사학회. 골다공증. 3판. 서울 : 도서출판 한미의학. 2006 : 11-6, 33-7, 164, 465-6
4. 王水 編撰, 李元起 懸吐. 新編 黃帝內經素問. 서울 : 大星文化社. 1994 : 17, 32, 107, 134, 137-8, 163.
5. 강성길, 박영배, 안현석. 골다공증의 침구 치료에 대한 문헌적 고찰. 대한침구학회지. 1995 ; 15(2) : 171-89.
6. 대한약침학회 학술위원회. 약침학. 서울 : Elsevier Korea L.L.C.. 2008 : 1, 47
7. 이상인 외. 본초학. 서울 : 영림사. 2004 : 379-80.
8. 전국한의과대학 · 한의학전문대학원 경락경혈학교재편찬위원회. 대학경락경혈학자론(하). 서울 : 의방출판사. 2009 : 765-7.
9. Witt C 외. Acupuncture in patients with osteoarthritis of the knee: a randomised trial. Lancet. 2005 : 100-1.
10. 정연탁 외. 陰谷(KI10)에 시술한 五加皮 藥鍼이 난소적출 생쥐의 骨多孔症에 미치는 영향. 경락경혈학회지. 2008 ; 25(1) : 165-196.
11. 오치석 외. 陰谷에 시술한 骨碎補 藥鍼이 난소적출 흰쥐의 骨多孔症에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2008 ; 25(3) : 71-86.
12. 정년식 외. 陰谷 肉蓯蓉 藥鍼이 난소적출 생쥐의 骨多孔症에 미치는 영향. 경락경혈학회지. 2008 ; 25(3) : 97-115.
13. 최창민, 이수정, 박경환, 김송백, 조한백. 右歸飲의 난소적출 白鼠의 골다공증에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2006 ; 19(4) : 77-92.

14. 서규태. 生何首烏와 製何首烏가 난소적출로 유발된 흰쥐의 골다공증 예방효과에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2005 ; 20(2) : 137-48.
15. 석재욱. 巴戟天 약침이 난소적출로 유발된 백서의 골다공증에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2000 ; 17(3) : 140-50.
16. 김정호 외. 향부자 약침이 골다공증에 미치는 실험적 연구. 대한침구학회지. 25(2) : 243-57.
17. WHO 서태평양지역사무처. WHO/WPRO 표준경혈위치(한글공식판). 서울 : Elsevier Korea L.L.C.. 2009 : 144.
18. 조수현. 골다공증의 개요. 한양의대학술지. 2002 ; 22(1) : 1-4.
19. 한방여성의학 편찬위원회. 한방여성의학 I. 서울 : 도서출판 정담. 2007 : 239.
20. 최웅환. 골다공증의 비호르몬제 치료법. 한양의대학술지 2002 ; 22(1) : 19-26.
21. 강병문. 골다공증 치료의 의학약제와 대체 약물의 비교. 대한산부인과학회지. 2006 ; 49(12) : 2459-73
22. 한방재활의학과학회. 한방재활의학과학. 서울 : 군자출판사. 2003 : 4, 155-9.
23. 政和奉勅撰, 吳錫璜 著. 聖濟總錄. 上海 : 上海文端書局. 1977 : 336-7.
24. 吳越 日華子 集, 尙志鈞 輯釋. 日華子本草 蜀本草(合刊本). 合肥 : 安徽科學技術出版社. 2005 : 321.
25. 최인세. 골다공증의 연구 동향에 대한 분석(1991년 이후의 국내학위논문을 중심으로). 대전대학교 석사학위논문. 2002.
26. Yamazaki I, Yamazaki H.. Characteristics of an ovariectomized osteopenic rat model. J Bone Miner Res.. 1989 ; 4(1) : 13-22.
27. 이환모, 한수봉, 박병문. 백서의 난소제거술 후 발생한 골조송증에 대한 Calcitonin의 효과. 대한정형학회지. 1992 ; 27(2) : 577-82.
28. Eric P. Widmaier 외 원저, 강신성 외 역. 인체생리학(Human Physiology). 10th Edition. 지코사이언스. 2008 : 704.
29. 이명옥. 폐경여성의 골밀도 예측요인. 한국간호교육학회지. 2006 ; 12(2) : 214-23.
30. Dike N, Kalu, Bahran HA, Chung CL, Mohammed AS and Roger SB. Effects of ovariectomy and estrogen on the serum levels of insulin-like growth factor binding protein-3. Bone and mineral. 1994 ; 25 : 135-48.
31. Yeh JK, Aloia JF, Barilla ML. Effects of β -estradiol replacement and treadmill exercise on vertebral and femoral bone of the ovariectomized rat. Bone and Mineral. 1994 ; 24(3) : 223-4.
32. Riss B, Thomsen K, Christiansen C. Does calcium supplementation prevent postmenopausal bone loss?. N Engl Med. 1987 ; 316 : 173-7.
33. Gallagher SK. Biochemical markers of bone metabolism as they relate to osteoporosis. Medical Lab Observer. 1997 ; 29 : 50-6.
34. Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover for the clinical investigation of osteoporosis. Osteoporosis Int 4(suppl).

- 1993 : 81-6.
35. 이귀녕, 권오현. 임상병리파일. 서울 : 의학문화사. 2003 : 102-5, 278-82, 300-8, 328-31, 425-7, 734-6.
36. 오기원 외. 한국인 폐경기 여성에서의 요 칼슘배설과 골대사의 관계. 대한내과학회지. 2002 ; 63(4) : 402-10.
37. 岡野一年 箸, 서광편집부 釋. 골다공증. 광주 : 서광. 2000 : 114-53.
38. Yeh JK, Aloia JF, Barilla ML. Effect of 17β -estradiol replacement and treadmill exercise on vertebral and femoral bones of the ovariectomized rat. Bone and Mineral. 1994 ; 24(3) : 223-34.
39. Chikazu, D., Shindo, M., Iwasaka, T., Katagiri, M., Manabe, N., Akato, T., Nakamura, K. and Kawaguchi, H.. A novel synthetic triazolotriazepine derivative JTT-606 inhibits bone resorption by downregulation of action and production of bone resorptive factors. J. Bone Miner. Res, 2000.
40. 대한내과학회 해리슨내과학 편집위원회. 해리슨 내과학. 16판. 서울 : 도서출판 MIP. 2006 : 2447-59.
41. Arthur C. Guyton, M.D., John E. Hall, Ph.D.. 의학생리학. 서울 : 정담. 2002 : 1050-3.